

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

From the INTERNATIONAL BUREAU

NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

To:

AGUREEV, Alexandr Pavlovich
OOO "Sojuzpatent"
ul. Iliinka, 5/2
Moscow, 103735
FÉDÉRATION DE RUSSIE

Date of mailing (day/month/year) 14 February 2001 (14.02.01)	
Applicant's or agent's file reference Z 76	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/RU00/00477	International filing date (day/month/year) 22 November 2000 (22.11.00)
International publication date (day/month/year) Not yet published	Priority date (day/month/year) 08 December 1999 (08.12.99)
Applicant ZYBIN, Dmitry Vladimirovich et al	

1. The applicant is hereby notified of the date of receipt (except where the letters "NR" appear in the right-hand column) by the International Bureau of the priority document(s) relating to the earlier application(s) indicated below. Unless otherwise indicated by an asterisk appearing next to a date of receipt, or by the letters "NR", in the right-hand column, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
2. This updates and replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents.
3. An asterisk(*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b). In such a case, **the attention of the applicant is directed** to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
4. The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which was not received by the International Bureau or which the applicant did not request the receiving Office to prepare and transmit to the International Bureau, as provided by Rule 17.1(a) or (b), respectively. In such a case, **the attention of the applicant is directed** to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

<u>Priority date</u>	<u>Priority application No.</u>	<u>Country or regional Office or PCT receiving Office</u>	<u>Date of receipt of priority document</u>
08 Dec 1999 (08.12.99)	99125349	RU	09 Janu 2001 (09.01.01)
23 June 2000 (23.06.00)	2000116208	RU	09 Janu 2001 (09.01.01)

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Beatriz LARGO

Facsimile No. (41-22) 740.14.35

Telephone No. (41-22) 338.83.38

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PCT

ЗАЯВЛЕНИЕ

Нижеподписавшийся просит
рассматривать настоящую
международную заявку в соответствии
с Договором о патентной кооперации

Заполняется получающим ведомством

Международная заявка №

Дата международной подачи

Наименование получающего ведомства
и штамп "Международная заявка PCT"№ дела заявителя или агента
(по желанию) (максимум 12 знаков)

Z 76

Графа I НАЗВАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ Применение полиакриламидного геля для формирования капсулы в ткани организма млекопитающего, способ культивирования клеток и способ лечения онкологических заболеваний и сахарного диабета

Графа II ЗАЯВИТЕЛЬ

Имя и адрес: (Фамилия указывается перед именем, для юридического лица - полное уставное наименование. Адрес должен включать почтовый индекс и название страны. Если государство местожительства внизу не будет указано, то таковым будет считаться страна указанного в данной графе адреса.)

ЗЫБИН Дмитрий Владимирович
ZYBIN Dmitry Vladimirovich
Российская Федерация, 109382, Москва, ул.
Армавирская, д.5, кв.212
Russian Federation, 109382, Moscow, ul.
Armavirskaya, d.5, kv. 212

☒ Данное лицо является
также изобретателем

Телефон №

Телефакс №

Телекс №

Государство (т.е. страна) гражданства:

RU

Государство (т.е. страна) местожительства:

RU

Данное лицо является
заявителем для:всех указанных
государстввсех указанных госу-
дарств, кроме СШАтолько
СШАгосударств, указанных в
дополнительной графе

Графа III ДРУГИЕ ЗАЯВИТЕЛИ И/ИЛИ (ДРУГИЕ) ИЗОБРЕТАТЕЛИ

Имя и адрес: (Фамилия указывается перед именем, для юридического лица - полное уставное наименование. Адрес должен включать почтовый индекс и название страны. Если государство местожительства внизу не будет указано, то таковым будет считаться страна указанного в данной графе адреса.)

КОТЕЛЕВИЧ Алексей Геннадиевич
KOTELEVITS Alexei Gannadievich
Российская Федерация, 109017, Москва, ул.
Пятницкая, д.39, кв.1
Russian Federation, 109017, Moscow, ul.
Pyatnitskaya, d.39, kv. 1

Данное лицо является:

☐ только заявителем☒ заявителем и
изобретателем☐ только изобретателем:
(если почтено здесь, то не
требуется заполнять ниже.)

Государство (т.е. страна) гражданства:

RU

Государство (т.е. страна) местожительства:

RU

Данное лицо является
заявителем для:всех указанных
государстввсех указанных госу-
дарств, кроме СШАтолько
СШАгосударств, указанных в
дополнительной графе
☒ Другие заявители и/или (другие) изобретатели названы на листе для продолжения.

Графа IV АГЕНТ ИЛИ ОБЩИЙ ПРЕДСТАВИТЕЛЬ; ИЛИ АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Указанное ниже лицо настоящим назначается (назначено) представлять
заявителя (заявителей) в компетентных международных органах в качестве:



агента

общего
представителя

Имя и адрес: (Фамилия указывается перед именем, для юридического лица - полное уставное наименование. Адрес должен включать почтовый индекс и название страны.)

000 "Союзпатент"
000 "Sojuzpatent"
Российская Федерация, 103735, Москва, ул. Ильинка, д.5/2
Russian Federation, 103735, Moscow, ul. Ilinka,
d.5/2
Агуреев Александр Павлович
Agureev Alexandr Pavlovich

Телефон №

925-16-61

Телефакс №

924-95-40

924-95-43

Телекс №

☐ Адрес для переписки: Пометить эту клетку, если агент или общий представитель не назначаются, а вместо этого указывается адрес для переписки.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Графа III		ДРУГИЕ ЗАЯВИТЕЛИ И/ИЛИ (ДРУГИЕ) ИЗОБРЕТАТЕЛИ	
Если ни одна из следующих подграф не используется, этот лист не включается в заявление			
<p>Имя и адрес: (Фамилия указывается перед именем, для юридического лица - полное уставное наименование. Адрес должен включать почтовый индекс и название страны. Если государство местожительства внизу не будет указано, то таковым будет считаться страна указанного в данной графе адреса.)</p> <p>СЕВЕРИН Сергей Евгеньевич SEVERIN Sergei Evgenievich Российская Федерация, 117418, г. Москва Новые Черемушки, квартал 24-25, к. 8Б, кв. 245 Russian Federation, 117418, Moscow, Novye Cheremushki, kvartal 24-25, korpus 8B, kv. 245</p>		<p>Данное лицо является:</p> <p><input type="checkbox"/> только заявителем</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> заявителем и изобретателем</p> <p><input type="checkbox"/> только изобретателем (если помечено здесь, то не требуется заполнять ниже.)</p>	
Государство (т.е. страна) гражданства: RU		Государство (т.е. страна) местожительства: RU	
<p>Данное лицо является заявителем для: <input checked="" type="checkbox"/> всех указанных государств <input type="checkbox"/> всех указанных государств, кроме США <input type="checkbox"/> только США <input type="checkbox"/> государств, указанных в дополнительной графе</p>			
<p>Имя и адрес: (Фамилия указывается перед именем, для юридического лица - полное уставное наименование. Адрес должен включать почтовый индекс и название страны. Если государство местожительства внизу не будет указано, то таковым будет считаться страна указанного в данной графе адреса.)</p> <p>СОЛОГУБ Владимир Константинович SOLOGUB Vladimir Konstantinovich Российская Федерация, 117192, Москва ул. Гарибальди, д. 10, корп. 3, кв. 304 Russian Federation, 117192, Moscow, ul. Garibaldi, d. 10, kor. 3, kv. 304</p>		<p>Данное лицо является:</p> <p><input type="checkbox"/> только заявителем</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> заявителем и изобретателем</p> <p><input type="checkbox"/> только изобретателем (если помечено здесь, то не требуется заполнять ниже.)</p>	
Государство (т.е. страна) гражданства: RU		Государство (т.е. страна) местожительства: RU	
<p>Данное лицо является заявителем для: <input checked="" type="checkbox"/> всех указанных государств <input type="checkbox"/> всех указанных государств, кроме США <input type="checkbox"/> только США <input type="checkbox"/> государств, указанных в дополнительной графе</p>			
<p>Имя и адрес: (Фамилия указывается перед именем, для юридического лица - полное уставное наименование. Адрес должен включать почтовый индекс и название страны. Если государство местожительства внизу не будет указано, то таковым будет считаться страна указанного в данной графе адреса.)</p> <p>МИРОНОВА Любовь Леонидовна MIRONOVA Ljubov Leonidovna Российская Федерация, 142782, Московская обл., Ленинский р-н, пос. "Институт полимелита" д. 1, кв. 7 Russian Federation, 142782, Moskovskaya oblast, Leninsky raion, pos. "Institut polimelita", d. 1, kv. 7</p>		<p>Данное лицо является:</p> <p><input type="checkbox"/> только заявителем</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> заявителем и изобретателем</p> <p><input type="checkbox"/> только изобретателем (если помечено здесь, то не требуется заполнять ниже.)</p>	
Государство (т.е. страна) гражданства: RU		Государство (т.е. страна) местожительства: RU	
<p>Данное лицо является заявителем для: <input type="checkbox"/> всех указанных государств <input type="checkbox"/> всех указанных государств, кроме США <input checked="" type="checkbox"/> только США <input type="checkbox"/> государств, указанных в дополнительной графе</p>			
<p>Имя и адрес: (Фамилия указывается перед именем, для юридического лица - полное уставное наименование. Адрес должен включать почтовый индекс и название страны. Если государство местожительства внизу не будет указано, то таковым будет считаться страна указанного в данной графе адреса.)</p>		<p>Данное лицо является:</p> <p><input type="checkbox"/> только заявителем</p> <p><input type="checkbox"/> заявителем и изобретателем</p> <p><input type="checkbox"/> только изобретателем (если помечено здесь, то не требуется заполнять ниже.)</p>	
Государство (т.е. страна) гражданства:		Государство (т.е. страна) местожительства:	
<p>Данное лицо является заявителем для: <input type="checkbox"/> всех указанных государств <input type="checkbox"/> всех указанных государств, кроме США <input type="checkbox"/> только США <input type="checkbox"/> государств, указанных в дополнительной графе</p>			
<p><input type="checkbox"/> Другие заявители и/или (другие) изобретатели названы на листе для продолжения</p>			

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Графа V УКАЗАНИЕ ГОСУДАРСТВ

Настоящим делаются следующие указания в соответствии с правилом 4.9(а) (сделать пометку в нужных клетках; должна быть помечена хотя бы одна клетка):

Региональный патент

- ☐ AP Патент ARIPO: GH Гана (Ghana), GM Гамбия (Gambia), KE Кения (Kenya), LS Лесото (Lesotho), MW Малави (Malawi), SD Судан (Sudan), SZ Свазиленд (Swaziland), UG Уганда (Uganda), ZW Зимбабве (Zimbabwe), а также любое другое государство, являющееся Договаривающимся государством Протокола Хараре и РСТ
- ☐ EA Евразийский патент: AM Армения (Armenia), AZ Азербайджан (Azerbaijan), BY Беларусь (Belarus), KG Киргизстан (Kyrgyzstan), KZ Казахстан (Kazakhstan), MD Республика Молдова (Republic of Moldova), RU Российская Федерация (Russian Federation), TJ Таджикистан (Tajikistan), TM Туркменистан (Turkmenistan), а также любое другое государство, являющееся Договаривающимся государством Евразийской патентной конвенции и РСТ
- ☒ EP Европейский патент: AT Австрия (Austria), BE Бельгия (Belgium), CH and LI Швейцария и Лихтенштейн (Switzerland and Liechtenstein), CY Кипр (Cyprus), DE Германия (Germany), DK Дания (Denmark), ES Испания (Spain), FI Финляндия (Finland), FR Франция (France), GB Великобритания (United Kingdom), GR Греция (Greece), IE Ирландия (Ireland), IT Италия (Italy), LU Люксембург (Luxembourg), MC Монако (Monaco), NL Нидерланды (Netherlands), PT Португалия (Portugal), SE Швеция (Sweden), а также любое другое государство, являющееся Договаривающимся государством Европейской патентной конвенции и РСТ
- ☐ OA Патент OAPI: BF Буркина-Фасо (Burkina Faso), BJ Бенин (Benin), CF Центральноафриканская Республика (Central African Republic), CG Конго (Congo), CI Кот-д'Ивуар (Côte d'Ivoire), CM Камерун (Cameroon), GA Габон (Gabon), GN Гвинея (Guinea), GW Гвинея-Бисау (Guinea-Bissau), ML Мали (Mali), MR Мавритания (Mauritania), NE Нигер (Niger), SN Сенегал (Senegal), TD Чад (Chad), TG Того (Togo), а также любое другое государство, являющееся членом OAPI и Договаривающимся государством РСТ (если испрашивается иной охраняемый документ или статус, написать на пунктирной линии)

Национальный патент (если испрашивается иной охраняемый документ или статус, написать на пунктирной линии):

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> AL Албания (Albania) | <input type="checkbox"/> LS Лесото (Lesotho) |
| <input type="checkbox"/> AM Армения (Armenia) | <input type="checkbox"/> LT Литва (Lithuania) |
| <input type="checkbox"/> AT Австрия (Austria) | <input type="checkbox"/> LU Люксембург (Luxembourg) |
| <input type="checkbox"/> AU Австралия (Australia) | <input type="checkbox"/> LV Латвия (Latvia) |
| <input type="checkbox"/> AZ Азербайджан (Azerbaijan) | <input type="checkbox"/> MD Республика Молдова (Republic of Moldova) |
| <input type="checkbox"/> BA Босния и Герцеговина (Bosnia and Herzegovina) | <input type="checkbox"/> MG Мадагаскар (Madagascar) |
| <input type="checkbox"/> BB Барбадос (Barbados) | <input type="checkbox"/> MK Бывшая югославская Республика Македония (The former Yugoslav Republic of Macedonia) |
| <input type="checkbox"/> BG Болгария (Bulgaria) | <input type="checkbox"/> MN Монголия (Mongolia) |
| <input type="checkbox"/> BR Бразилия (Brazil) | <input type="checkbox"/> MW Малави (Malawi) |
| <input type="checkbox"/> BY Беларусь (Belarus) | <input type="checkbox"/> MX Мексика (Mexico) |
| <input checked="" type="checkbox"/> CA Канада (Canada) | <input type="checkbox"/> NO Норвегия (Norway) |
| <input type="checkbox"/> CH and LI Швейцария и Лихтенштейн (Switzerland and Liechtenstein) | <input type="checkbox"/> NZ Новая Зеландия (New Zealand) |
| <input checked="" type="checkbox"/> CN Китай (China) | <input type="checkbox"/> PL Польша (Poland) |
| <input type="checkbox"/> CU Куба (Cuba) | <input type="checkbox"/> PT Португалия (Portugal) |
| <input type="checkbox"/> CZ Чешская Республика (Czech Republic) | <input type="checkbox"/> RO Румыния (Romania) |
| <input type="checkbox"/> DE Германия (Germany) | <input type="checkbox"/> RU Российская Федерация (Russian Federation) |
| <input type="checkbox"/> DK Дания (Denmark) | <input type="checkbox"/> SD Судан (Sudan) |
| <input type="checkbox"/> EE Эстония (Estonia) | <input type="checkbox"/> SE Швеция (Sweden) |
| <input type="checkbox"/> ES Испания (Spain) | <input type="checkbox"/> SG Сингапур (Singapore) |
| <input type="checkbox"/> FI Финляндия (Finland) | <input type="checkbox"/> SI Словения (Slovenia) |
| <input type="checkbox"/> GB Великобритания (United Kingdom) | <input type="checkbox"/> SK Словакия (Slovakia) |
| <input type="checkbox"/> GD Гренада (Grenada) | <input type="checkbox"/> SL Сьерра-Леоне (Sierra Leone) |
| <input type="checkbox"/> GE Грузия (Georgia) | <input type="checkbox"/> TJ Таджикистан (Tajikistan) |
| <input type="checkbox"/> GH Гана (Ghana) | <input type="checkbox"/> TM Туркменистан (Turkmenistan) |
| <input type="checkbox"/> GM Гамбия (Gambia) | <input type="checkbox"/> TR Турция (Turkey) |
| <input type="checkbox"/> HR Хорватия (Croatia) | <input type="checkbox"/> TT Тринидад и Тобаго (Trinidad and Tobago) |
| <input type="checkbox"/> HU Венгрия (Hungary) | <input type="checkbox"/> UA Украина (Ukraine) |
| <input type="checkbox"/> ID Индонезия (Indonesia) | <input type="checkbox"/> UG Уганда (Uganda) |
| <input type="checkbox"/> IL Израиль (Israel) | <input checked="" type="checkbox"/> US Соединенные Штаты Америки (United States of America) |
| <input type="checkbox"/> IN Индия (India) | <input type="checkbox"/> UZ Узбекистан (Uzbekistan) |
| <input type="checkbox"/> IS Исландия (Iceland) | <input type="checkbox"/> VN Вьетнам (Viet Nam) |
| <input checked="" type="checkbox"/> JP Япония (Japan) | <input type="checkbox"/> YU Югославия (Yugoslavia) |
| <input type="checkbox"/> KE Кения (Kenya) | <input type="checkbox"/> ZW Зимбабве (Zimbabwe) |
| <input type="checkbox"/> KG Киргизстан (Kyrgyzstan) | |
| <input type="checkbox"/> KP Корея Народно-Демократическая Республика (Democratic People's Republic of Korea) | |
| <input checked="" type="checkbox"/> KR Республика Корея (Republic of Korea) | |
| <input type="checkbox"/> KZ Казахстан (Kazakhstan) | |
| <input type="checkbox"/> LC Сент-Люсия (Saint Lucia) | |
| <input type="checkbox"/> LK Шри Ланка (Sri Lanka) | |
| <input type="checkbox"/> LR Либерия (Liberia) | |

Клетки, зарезервированные для указания государств (в целях получения национальных патентов), которые стали участниками РСТ после выпуска данного листа:

Упоминание о предварительных указаниях: В дополнение к указаниям, сделанным выше, заявитель, в соответствии с правилом 4.9(b), делает также все указания, допустимые в соответствии с РСТ, за исключением указания (указаний), приведенного (приведенных) в дополнительной графе в качестве исключенных из данного упоминания, и заявляет, что эти дополнительные указания подлежат утверждению и что любое указание, не подтвержденное до истечения 15 месяцев с даты приоритета, должно считаться изъятным заявителем на момент истечения этого срока. (Подтверждение указания состоит в подаче уведомления, содержащего указание, и в оплате пошлин за указание и за подтверждение. Подтверждение должно быть получено получающим ведомством в пределах 15-месячного срока.)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Графа VI ПРИТЯЖАНИЕ НА ПРИОРИТЕТ		<input type="checkbox"/> Последующие притязания на приоритет приведены в дополнительной графе		
Дата подачи предшествующей заявки (день/месяц/год)	Номер предшествующей заявки	Если предшествующая заявка является:		
		национальной заявкой: страна	региональной заявкой: региональное ведомство	международной заявкой: получающее ведомство
(1) 08 декабря 1999 (08.12.99)	99125349	RU		
(2) 23 июня 2000 (23.06.00)	2000116208	RU		
()				

☒ Получающему ведомству поручается подготовить и направить Международному бюро заверенную копию предшествующей заявки (заявок) (только в том случае, если предшествующая заявка (заявки) была подана в ведомство, которое для настоящей международной заявки является получающим ведомством) (1) (2)

* Если предшествующая заявка является заявкой АRIPO, то в дополнительной графе необходимо указать по крайней мере одну страну - участницу Парижской конвенции по охране промышленной собственности, для целей которой была подана эта предшествующая заявка.

Графа VII МЕЖДУНАРОДНЫЙ ПОИСКОВЫЙ ОРГАН

Выбор международного поискового органа (ISA) (Если компетентными в проведении международного поиска являются два или более международных поисковых органа, назвать один из них; можно использовать двухбуквенный код):

ISA / RU

Просьба об использовании результатов ранее проведенного поиска; ссылка на такой поиск (если поиск был уже проведен или запрошен у Международного поискового органа ранее):
Дата (день/месяц/год) Номер Страна (или региональное ведомство)

Графа VIII КОНТРОЛЬНЫЙ ПЕРЕЧЕНЬ

Настоящая международная заявка содержит следующее количество листов:

заявление : 4
описание (исключая перечень последовательностей) : 13
формула : 2
реферат : 1
чертежи : 1
часть описания с перечнем последовательностей : _____

Общее число листов : 21

К настоящей международной заявке приложены следующие документы:

1. ☐ лист расчета пошлин
2. ☐ отдельная подписанная доверенность
3. ☐ копия общей доверенности; ссылка на номер, если имеется:
4. ☐ разъяснения по поводу отсутствия подписи
5. ☐ приоритетный(ые) документ(ы), указанный(ые) в графе VI под номером(ами):
6. ☐ перевод международной заявки на (язык):
7. ☐ информация о депонировании микроорганизмов или другого биологического материала
8. ☐ перечень последовательностей нуклеотидов/аминокислот в машиночитаемой форме
9. ☐ прочее (указать):

Фигура чертежей, предлагаемая для публикации с рефератом: -

Язык подачи международной заявки: RU

Графа IX ПОДПИСЬ ЗАЯВИТЕЛЯ ИЛИ АГЕНТА

Рядом с подписью назвать фамилию каждого подписавшего и указать, в каком качестве он подписал заявление, если это не очевидно из данных, приведенных в заявлении.

1. Зыбин Д.В.
2. Котелевиц А.Г.
3. Северин С.Е.
4. Сологуб В.К.
5. Миронова Л.Л.

1. 2. 3. 4. 5.

Заполняется получающим ведомством	
1. Дата фактического получения предполагаемой международной заявки:	2. Чертежи <input type="checkbox"/> получены <input type="checkbox"/> не получены
3. Исправленная дата при более позднем, но своевременном получении страниц или чертежей, доукомплектовывающих предполагаемую международную заявку:	
4. Дата своевременного получения требуемых исправлений согласно статье 11(2) PCT:	
5. Международный поисковый орган (если компетентны два или более): ISA /	6. <input type="checkbox"/> Направление копии для поиска задержано впредь до уплаты пошлины за поиск

Дата получения регистрационного экземпляра Международным бюро: _____
Заполняется Международным бюро _____

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(12) МЕЖДУНАРОДНАЯ ЗАЯВКА, ОПУБЛИКОВАННАЯ В СООТВЕТСТВИИ С
ДОГОВОРом О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ (РСТ)

(19) ВСЕМИРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
Международное бюро



(43) Дата международной публикации:
14 июня 2001 (14.06.2001)

РСТ

(10) Номер международной публикации:
WO 01/41809 A1

(51) Международная патентная классификация⁷: A61K
47/32, 39/39, A61L 31/06, A61P 5/50, 35/00

(21) Номер международной заявки: PCT/RU00/00477

(22) Дата международной подачи:
22 ноября 2000 (22.11.2000)

(25) Язык подачи: русский

(26) Язык публикации: русский

(30) Данные о приоритете:
99125349 8 декабря 1999 (08.12.1999) RU
2000116208 23 июня 2000 (23.06.2000) RU

(71) Заявители и

(72) Изобретатели: ЗЫБИН Дмитрий Владимирович
[RU/RU]; 109382 Москва, ул. Армавирская, д. 5, кв.
212 (RU) [ZYBIN, Dmitry Vladimirovich, Moscow
(RU)]. КОТЕЛЕВИЦ Алексей Геннадиевич [RU/
RU]; 109017 Москва, ул. Пятницкая, д. 39, кв. 1
(RU) [KOTELEVITS, Alexei Gennadievich, Mos-
cow (RU)]. СЕВЕРИН Сергей Евгеньевич [RU/
RU]; 117418 Москва, Новые Черёмушки, квартал
24-25, корп. 86, кв. 245 (RU) [SEVERIN, Sergei
Evgenievich, Moscow (RU)]. СОЛОГУБ Владимир
Константинович [RU/RU]; 117192 Москва, ул. Га-
рибальди, д. 10, корп. 3, кв. 304 (RU) [SOLOGUB,
Vladimir Konstantinovich, Moscow (RU)].

(72) Изобретатель; и

(75) Изобретатель/Заявитель (только для (US): МИРО-
НОВА Любовь Леонидовна [RU/RU]; 142782
Московская обл., Ленинский район, пос. «Инсти-
тут полимиелита», д. 1, кв. 7 (RU) [MIRONOVA,
Ljubov Leonidovna, pos. Institut polimielita (RU)].

(74) Агент: АГУРЕЕВ Александр Павлович, ООО
«СОЮЗПАТЕНТ»; 103735 Москва, ул. Ильинка,
д. 5/2 (RU) [AGUREEV, Alexandr Pavlovich,
Moscow (RU)].

(81) Указанные государства (национально): CA, CN, JP,
KR, US.

(84) Указанные государства (регионально): европей-
ский патент (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR,
GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).

Опубликована

С отчётом о международном поиске.

В отношении двухбуквенных кодов, кодов языков и дру-
гих сокращений см. «Пояснения к кодам и сокращениям»,
публикуемые в начале каждого очередного выпуска Бюл-
летеня РСТ.

(54) Title: APPLICATION OF POLYACRYLAMIDE GEL FOR FORMING A CAPSULE IN THE TISSUE OF A
MAMMAL ORGANISM, METHOD FOR CULTIVATING CELLS AND METHOD FOR THERAPY OF ONCOLOGICAL
DISEASES AND THE DIABETES MELLITUS

(54) Название изобретения: ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛИАКРИЛАМИДНОГО ГЕЛЯ ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ КАПСУЛЫ
В ТКАНИ ОРГАНИЗМА МЛЕКОПИТАЮЩЕГОСЯ, СПОСОБ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК И СПОСОБ ЛЕЧЕ-
НИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ И САХАРНОГО ДИАБЕТА

(57) Abstract: The invention relates to the field of medicine specifically to a problem of vaccination against tumor cells and to a
new method for the vaccine-therapy of diabetes mellitus. The invention proposes a new method for cultivating cells involving
the formation of a capsule in a mammal tissue including that of human beings. The capsule is made of polyacrylamide gel and
desired cells are injected therein. The invention ensures to maintain the viability of cells for a long time.

(57) Реферат: Изобретение относится к области медицины, более конкретно, касается проблемы вакцинации против
опухолевых клеток и вакцинотерапии онкологических заболеваний, а также нового метода лечения сахарного диабета.
В изобретении предлагается новый способ культивирования клеток, предполагающий формирование в ткани
животного, в том числе человека, капсулы из полиакриламидного геля, в которую инъецируют желаемые клетки.
Изобретение обеспечивает поддержание жизнеспособности клеток в течение длительного времени.



WO 01/41809 A1

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Применение полиакриламидного геля для формирования капсулы в ткани организма млекопитающего, способ культивирования клеток и способ лечения онкологических заболеваний и сахарного диабета.

5

Область техники

Изобретение относится к медицине, в частности, к иммунологии и иммуноонкологии, а также к лечению сахарного диабета, преимущественно инсулинозависимого. Более конкретно, изобретение касается проблемы вакцинации 10 против опухолевых клеток и вакцинотерапии онкологических заболеваний и нового метода лечения сахарного диабета. Кроме того, изобретение предлагает специальную капсулу для использования в методах лечения, благодаря которой лечение оказывается существенно более эффективным.

15

Предшествующий уровень техники

Известно, что проблема трансплантации органов, тканей, клеточных культур млекопитающих сопряжена с трудностями, связанными с «приживляемостью» чужеродных тканево-клеточных агентов в организме реципиента. Существующие 20 способы пересадки алло-, гетеро-, ксенотрансплантантов требуют или мощной иммуносупрессивной терапии реципиента или оригинальных методик. К последним относятся способы трансплантации клеток различных органов плодов человека и животных, т.е. используется эффект не сложившейся видовой специфичности. Таким образом, например, проводят трансплантацию культур островковых 'клеток 25 поджелудочной железы 24-26 недельных плодов человека в паренхиму печени или в воротную вену в эксперименте крысам.

Местом введения клеток может служить пульпа селезенки или мышцы переднейбрюшной стенки. Известны случаи лечения аналогичным методом людей, страдающих сахарным диабетом. (Скалецкий Н.Н. «Влияние культивирования 30 островковых клеток поджелудочной железы на их выживание в организме ксеногенного реципиента». Всероссийская конференция по трансплантации органов 1995 г., стр. 219-220.)

Представляет интерес пересадка клеток Лейдига в тестикулярную ткань мужским особям для лечения бесплодия, так как реакция отторжения не наступает из-за наличия гематотестикулярного барьера. (Зыбин Д.В., «Способ лечения больных с нарушением мужской половой сферы методом трансплантации».

5 Патент РФ 2026643 от 20.01.95.)

В результате обоих описанных способов были получены хорошие результаты по сохранению жизнеспособности и активности трансплантируемых клеток. Однако первый способ позволяет использовать только эмбриональные клетки, что по понятным причинам вызывает целый ряд трудностей; второй способ клеточной
10 терапии оказывается применимым только к мужским особям.

Известен способ вакцинации и вакцинотерапии опухолей с помощью живых клеток. Применяемые клетки являются гибридами или трансфецированными клетками, аллогенными или аутогенными. Недостатком таких клеток является кратковременное существование в организме и, соответственно, низкий
15 иммунизирующий эффект. (B.E. Souberbielle, M.Westby, S.Ganz, J.Kayaga. Comparison of four strategies for tumor vaccination in the B-16 F10 melanoma model. Gene therapy 1998, 1447-1454.)

В уровне техники известен способ трансплантации ОКПЖ (островковые клетки поджелудочной железы) с использованием микрокапсуляции.

20 Способ состоит во введении ОКПЖ (алло- или ксеногенных), инкапсулированных в сферы альгинатного геля. Сферы имплантируют интраперитонеально. Имплантация сфер полностью заменяет терапию инсулином на 175 дней, но при этом одновременно применяется иммуносупрессивная терапия. Крысам с индуцированным диабетом вводят ОКПЖ быка без иммуносупрессии.
25 Нормогликемия поддерживается от нескольких недель до месяца.

Известным неудобством способа является необходимость применения иммуносупрессивной терапии. Определенные трудности представляет приготовление капсул in vitro. (Lanza R.P., Esker D.M., Marsh J.P. Transplantation of islets using microencapsulation: studies in diabetic rodents and dogs. J.Mol.Med. 1999 Jan. 77(1): 206-
30 10).

Также известен способ вакцинации и вакцинотерапии опухолей с помощью живых клеток. Он состоит в получении гибридом опухолевых клеток и аллогенных дендритных клеток (или макрофагов). Полученные гибридомы используют как

вакцинные препараты.

Однако и этому методу свойственен невысокий иммунизирующий эффект, обусловленный кратковременным существованием введенных клеток в организме реципиента. (Gajewsky T.F., Fallarino F. Rational development of tumor antigen-specific immunization in melanoma. Therapeutic Immunology, 1997, 2, 211-225).

Таким образом, проблема увеличения продолжительности жизни трансплантированных клеток и, как следствие этого, – увеличения иммунизирующего эффекта, а также избегания иммуносупрессивной терапии являются по-прежнему актуальными в данной области.

Специалистам известно, что проблема лечения сахарного диабета, также тесно связана с положительным решением вопроса пересадки клеток, успешное решение которого во многом обусловит желательную эффективность способа лечения.

Например, известен способ лечения сахарного диабета, согласно которому производят имплантацию клеток доброкачественной инсулиномы человека, при этом материал, содержащий β -клетки поджелудочной железы, имплантируют в прямую мышцу живота (патент РФ 2004247).

Однако, проблемы, возникающие в связи с борьбой с преобладанием роста фибробластов при использовании перевиваемой культуры β -клеток и необходимость точного контроля производительности инсулина конкретной фракцией культуры клеток инсулиномы, вызванного тем, что в качестве имплантата используют опухолевые клетки, функциональная активность которых может существенно варьировать не позволяют широко использовать способ.

Известен также способ лечения сахарного диабета методом трансплантации материала, содержащего β -клетки поджелудочной железы (патент РФ 2135193).

Способ лечения сахарного диабета, преимущественно инсулинозависимого осуществляют с использованием материала, содержащего β -клетки поджелудочной железы млекопитающих, полученные с использованием феномена миграции β -клеток.

Материал, содержащий β -клетки поджелудочной железы трансплантируют в различные органы и ткани; внутримышечно, в прямую мышцу живота, в печень (в паренхиму или через воротную вену), в пульпу селезенки, в селезеночную артерию, в полость брюшины, в большой сальник, в специально создаваемый мышечный карман.

Кратковременность продуцирования β -клетками донора инсулина в организме реципиента из-за эффекта отторжения гетерогенных клеток, вызывает необходимость

значительной иммуносупрессивной терапии.

Краткое описание фигуры

Фигура 1 иллюстрирует динамику тестостерона в сыворотке крови крыс линии Вистар, которым введены клетки Лейдига новорожденных поросят (ряды 1 и 2) и зеленых мартышек (ряды 3 и 4). Ряды 1 и 3 -контроль (введение клеток подкожно), ряды 2 и 4- опыт (введение клеток в сформированную полиакриламидную капсулу).

Раскрытие изобретения

10

Краткое описание изобретения

Настоящее изобретение направлено на преодоление указанных выше проблем. Неожиданным образом авторы данного изобретения открыли, что длительное поддержание жизнеспособности пересаживаемых клеток в организме реципиента, в том числе гетерогенных, может быть обеспечено, за счет использования формирующейся *in vivo* в организме млекопитающего (в том числе человека), нуждающегося в терапии такими клетками, капсулы из полиакриламидного геля.

Таким образом, одним из аспектов данного изобретения является применение полиакриламидного геля для получения в организме млекопитающего образующейся *in vivo* полиакриламидной капсулы, которая в дальнейшем может быть использована для культивирования трансплантированных в нее клеток.

Неожиданно для авторов инъектированные в указанную выше капсулу клетки оказались способными длительное время (до 100 и более дней) сохранять жизнеспособность и продуцировать необходимые для лечения соединения.

Следующим аспектом изобретения, таким образом, является способ культивирования необходимых для лечения клеток в организме пациента, нуждающегося в таком лечении. Культивированию клеток предшествует предварительное инъектирование полиакриламидного геля в организм млекопитающего; формирование, в течение определенного времени, в организме млекопитающего гелевой капсулы; и инъектирование в ее необходимого количества трансплантируемых клеток.

Длительное выживание клеток при их культивировании внутри тела пациент

оказывается применимым для лечения ряда заболеваний, которое требует трансплантации аутологичных или гетерологичных клеток-продуцентов биологически активных соединений, недостаток которых в организме усугубляет или вызывает заболевание.

5 Третьим аспектом данного изобретения является способ лечения заболеваний, которым показана иммунизация антигеном, который в обычных условиях требует интенсивной иммуносупрессорной терапии.

Следующим аспектом изобретения является способ лечения сахарного диабета, преимущественно, инсулинозависимого, заключающийся во введении в
10 предобразованную в организме пациента капсулу из полиакриламидного геля эффективного количества β -клеток поджелудочной железы.

Еще одним аспектом настоящего изобретения является способ культивирования и модификации гетерогенных клеток (опухо-левые клетки, клетки Лейдига и др.) в
15 организме млекопитающего с целью последующего их использования для получения вакцинного препарата. Под определением «модификация гетерогенных клеток» понимают снижение пролиферативной активности и иммунизирующее действие на организм.

Далее изобретение будет подробно раскрыто на примерах предпочтительного
20 выполнения, которые приводятся лишь для иллюстрации, но не должны использоваться для ограничения притязаний. Специалист в данной области может найти значительное множество возможностей дополнить или модифицировать изобретение, которое будет сохранять указанные выше преимущества и охватываться формулой изобретения.

25

Подробное описание изобретения

В общем виде изобретение осуществляют следующим образом.

30 Соединительно-тканная капсула, согласно данному изобретению может быть сформирована, например, путем подкожного введения полиакриламидного геля (ПААГ) (объемом 1,0-5 мл) животным, например, крысам линии Вистар (объемом 1,0-3 мл), или (объемом 0,5-1 мл) мышам линий C57BLACK и BALB/C, или

млекопитающего такого, как человек (объемом 1,0-3,0). В эксперименте могут участвовать разнополые особи. В гелевую капсулу могут быть введены клетки Лейдига половозрелых поросят, крыс и зеленых мартышек или опухолевые клетки. Контролем служат животные, которым вводят клетки под кожу.

5 Суспензию жизнеспособных клеток Лейдига тестикул половозрелых поросят, крыс и зеленых мартышек готовят, используя растворы, содержащие питательный субстрат для клеток, в частности составами стандартных сред Игла, среды 199, раствором Хэнкса и т.п.

10 Сущностью предложенного способа лечения больных сахарным диабетом является длительность существования и продуцирования инсулина β -клетками поджелудочной железы донора в организме реципиента, что достигается путем предварительного введения больному полиакриламидного геля подкожно, с последующей трансплантацией β -клеток в образовавшуюся капсулу.

15 Материал для трансплантации β -клеток получают из поджелудочной железы млекопитающих (новорожденных поросят, кроликов, половозрелых зеленых мартышек). Культивирование проводят с использованием стандартных сред и растворов. Для сохранения β -клеток в активном состоянии применяют метод щадящей ферментативной обработки поджелудочной железы, заключающейся в чередовании контактов ткани с ферментом и питательной средой. В результате этапов обработки
20 фрагменты ткани поджелудочной железы и β -клетки вносят в культуральные сосуды без центрифугирования. Причем дезагрегацию ткани проводят 0,1-0,25% раствором трипсина и хенопсина в разных последовательностях в зависимости от донорского материала. Завершают ферментативную обработку ткани во время ее контактов со средой с использованием колбы «Биотех-м», предусматривающей регулируемое
25 перемешивание взвеси на магнитном столе.

Полученный клеточный материал вводят реципиенту в соединительно-тканную капсулу, которая образована предварительно введенным подкожно полиакриламидным гелем. Количество клеток зависит от тяжести заболевания реципиента.

30 Следующие примеры иллюстрируют осуществление изобретения.

Пример 1.

Культуру клеток Лейдига новорожденных поросят в объеме 0,5 мл с

концентрацией клеток 5 млн. в 1 мл вводят в образованную полиакриламидным гелем капсулу, самкам крыс линии Вистар.

Контрольной группе животных той же линии, пола и антропологических данных вводят культуру клеток Лейдига новорожденных поросят подкожно. Перед
5 введением клеточной культуры измеряют содержание тестостерона в сыворотке крови животных. Последующие измерения тестостерона в сыворотке крови проводят с различными интервалами в течение 7 месяцев одновременно у экспериментальных и контрольных животных.

10 Количество животных в контроле и опыте по 2 особи. Фиг.1 (ряды 1 и 2 соответственно).

Пример 2.

Культуру клеток Лейдига половозрелых зеленых мартышек в объеме 0,5 мл сконцентрацией клеток 5 млн. в 1 мл вводят в образованную полиакриламидным гелем
15 капсулу, самкам крыс линии Вистар.

Контрольной группе животных той же линии, пола и антропологических данных вводят культуру клеток Лейдига половозрелых зеленых мартышек подкожно. Перед введением клеточной культуры измеряют содержание тестостерона в сыворотке крови животных. Последующие измерения тестостерона в сыворотке крови проводят с
20 различными интервалами в течение 7 месяцев, одновременно у экспериментальных и контрольных животных.

Количество животных в опыте и контроле по 2. Фиг. 1 (ряды 1 и 2 соответственно).

После 7 месяцев наблюдения животных забивают и проводят гистологическое
25 исследование, которое показывает наличие большого количества жизнеспособных клеток Лейдига, что позволяет сделать вывод о возможности жизнедеятельности ксено- и гетерогенных клеток в организме реципиента с использованием геля.

Пример 3.

30

Опытной партии мышей линии BALB/C (в количестве 6 особей), подкожно вводят ПААГ в объеме 0,5 мл. В гель вводят клетки опухоли меланомы мыши В-16 в объеме 1 мл с концентрацией клеток 1 млн.

Контрольной группе мышей линии BALB/C (в количестве 6 особей) подкожно вводят клетки меланомы мыши B-16 в объеме 1 мл с концентрацией клеток 1 млн.

Известно что, у мышей линии BALB/C меланома мышей B-16 не дают роста. В контрольной группе животных рост опухоли не обнаружен у всех 6 особей. В опытной 5 группе животных, путем пальпаторного исследования, отмечен рост опухоли в ПААГ у всех 6 особей. На 60 день опытных животных с мышшиной меланомой B-16 в геле забивают. Гель с опухолевыми клетками извлекают в асептических условиях и переводят в монослойную культуру на питательной среде РПМИ-1640 с 10% фетальной сывороткой. Фрагменты капсулы с опухолевыми клетками фиксируют в 10 нейтральном растворе формалина и проводят гистологическое исследование, которое позволяет судить о более высокой дифференциации меланомных клеток и потере ими пролиферативной активности (табл. 1 [1-2]).

ТАБЛИЦА № 1. СРАВНЕНИЕ РОСТА МЕЛАНОМ B-16 (МЫШЕЙ) И SKMEL 28 (ЧЕЛОВЕКА) В МЫШАХ ЛИНИЙ BALB/C И C57BLACK.

ЛИНИЯ МЫШЕЙ	ШТАММ ОПУХОЛИ	РОСТ МЕЛАНОМЫ	ПРОДОЛЖИТЕЛЬ НОСТЬ ЖИЗНИ	МЕТАС ТАЗЫ
BALB/C + ГЕЛЬ	B-16	+	60 ДНЕЙ (срок наблюдения)*	-
BALB/C	B-16	-	>СРОКА НАБЛЮДЕНИЯ	-
C57BLACK+ГЕЛЬ	SKMEL28	+	>СРОКА НАБЛЮДЕНИЯ	-
C57BLACK	SKMEL28	-	>СРОКА** НАБЛЮДЕНИЯ	-

*-животные с выросшими в геле опухолями забиты. Выделенные из них опухолевые клетки использованы в следующем эксперименте (табл. 2)

** -мыши использованы далее в опыте по оценке иммунитета против меланомы B-16 (табл. 3)

Пример 4.

Культуру клеток, полученную по примеру 1, в количестве 1мл с концентрацией клеток 1 млн. вводят мышам линии C57 BLACK подкожно (количество особей 6).

- 5 Известно, что опухоль меланомы мышей В-16 у линии мышей C57BLACK дает рост опухоли в 100% случаев, гибель животных наступает на 20-25 день в 100% случаев.

Контрольной группе мышей C57BLACK вводят культуру клеток меланомы мыши В-16 в количестве 1 мл с концентрацией клеток 1 млн.

- 10 У опытных мышей появление признаков роста опухоли отмечают через 30-33 дня, в контроле через 5-8 дней. Срок жизни опытных мышей составляет 60-65 дней, контрольных – 20-23 дня (табл. 2).

15 **ТАБЛИЦА 2. ТУМОРОГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ МЕЛАНОМЫ В-16, КУЛЬТИВИРОВАННОЙ В ГЕЛЕВОЙ КАПСУЛЕ, В МЫШАХ ЛИНИИ BALB/C ПРИВИТОЙ МЫШАМИ ЛИНИИ C57BLACK**

№	ШТАММ ОПУХОЛИ	ВРЕМЯ ПОЯВЛЕНИЯ ОПУХОЛИ	СРОК ЖИЗНИ МЫШЕЙ	НАЛИЧИЕ МЕТАСТА ЗОВ
1	Меланома из геля мышей линии BALB/C (В-16-Х)	30 ДНЕЙ	60 ДНЕЙ	+
2	В-16 (контроль)	7 ДНЕЙ	22 ДНЯ	+

20

Пример 5.

Мышам линии C57BLACK (в количестве 6 особей) вводят ПААГ в объеме 0,5 мл подкожно. В гель вводят культуру клеток меланомы человека SKAMEL 1 мл с концентрацией клеток 1млн.

Контрольной группе мышей, той же линии, (в количестве 6 особей) вводят подкожно культуру клеток меланомы человека SKMEL28 в объеме 1мл с концентрацией клеток 1 млн.

5 Известно что, культура клеток меланомы человека не дает роста у мышей в 100% случаев. В опытной группе животных в геле определяется пальпированием рост опухоли на 15-20 день после инъекции. У контрольных животных рост опухоли не отмечен (таблица 1 [3-4]).

Пример 6.

10 Группе опытных животных (количество особей 6), описанных в примере 3, вводят культуру клеток меланомы мыши B-16 подкожно в объеме 1 мл с концентрацией клеток 1 млн. Контрольной группе мышей линии C57BLACK (количество особей 6) вводят подкожно культуру клеток меланомы мыши B-16 в объеме 1 мл с
15 концентрацией клеток 1 млн.

У контрольных животных на 7-15 день развиваются подкожные меланомы в диаметре приблизительно 3-5 см. В это же время у опытных мышей признаков опухоли не обнаружено (табл.3).

20 ТАБЛИЦА № 3. ИМУННОГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ ЧЕЛОВЕЧЕСКОЙ МЕЛАНОМЫ SKMEL28 ДЛЯ МЫШЕЙ

№	ШТАММ ОПУХОЛИ	СРОК ПОЯВЛЕНИЯ ОПУХОЛИ	ГИБЕЛЬ ЖИВОТНЫХ
5	B-16	-	> 60 ДНЕЙ
6	B-16	7-15 ДНЕЙ	18-20 ДНЙ

25 Таким образом, приведенные выше результаты позволяют полагать, что способ культивирования гетерогенных клеток в ПААГ in vivo в результате чего снижается

пролиферативная активность опухолевых клеток и культивируемые клетки оказывают на организм иммунизирующее действие, что может быть использовано для вакцинации и вакцинотерапии.

5 **Пример 7.**

Больная Ф. 37 лет. Инсулинозависимый сахарный диабет диагностирован 11 лет назад, через год после родов. Беременность протекала тяжело: с токсикозом второй половины срока беременности, нефропатологией, значительным до 26 кг увеличением
10 веса. Заболевание носило все годы нестабильный характер, что требовало больших усилий в подборе адекватной инсулинотерапии. Потребление экзогенного инсулина варьировалось с 58 ед./сут., до 30 ед./сут. В последние два года диагностированы патологические изменения со стороны почек, что определяется как диабетическая нефропатия. В анализах мочи отмечено увеличение верхней границы протеинурии в
15 10-12 раз. Повышение артериального давления до 170/110 мм рт.ст.

Больной подкожно, в предварительно сформированную капсулу ввели культуру клеток поджелудочной железы новорожденных кроликов. Уже через 7 дней пациентка отмечала улучшение общего состояния, уменьшение чувства жажды и сухости
20 слизистой полости рта, снижение цифр артериального давления до 140/90 мм рт.ст. Через 15 дней состояние пациентки позволило снизить потребность в экзогенном инсулине с 30 ед. до 18 ед. (контроль крови и мочи). Через 30 дней потребность в экзогенном инсулине снизилась до 12 ед./сут., а к исходу 2-го месяца до 4 ед./сут.

Больная наблюдается в течение 12 месяцев. Клинических проявлений нефропатии не обнаруживается, артериальное давление в пределах возрастной нормы.
25 Пациентка переведена на пероральные антидиабетические препараты с обязательным условием соблюдения диабетической диеты и контроля глюкозы в крови, в моче и гликозилированного гемоглобина.

30 **Пример 8.**

Больной К. 52 года. Инсулинозависимый сахарный диабет диагностирован с 18 лет на фоне сильной стрессовой ситуации. Характер заболевания сначала был нестабильно тяжелым. Дозы экзогенного инсулина достигали 70 ед./сут. В последние

годы характер течения заболевания стабилизировался, но ухудшение состояния возникали после стрессовых ситуаций и погрешностях в диете.

В последние три года отмечалось ухудшение состояния сосудов нижних конечностей, снижение либидо, ухудшение эрекции и качества полового акта.

5 Диагносцирована диабетическая ангиопатия нижних конечностей и полового члена. Потребность в экзогенном инсулине за последний год от 20 ед./сут до 40 ед./сут.

В предварительно сформированную капсулу подкожно больному вводилась культура клеток поджелудочной железы 14-ти дневных поросят. Через две недели пациент отмечал улучшение общего состояния. Через месяц потребность в экзогенном
10 инсулине снизилась до 12 ед./сут. Через 2 месяца - до 6 ед./сут. Через 4 месяца после трансплантации больной переведен на перроральные антидиабетические препараты. Нормализовалась сексуальная жизнь пациента, значительно улучшилось состояние сосудов нижних конечностей.

Субъективные и объективные симптомы обследуемых пациентов,
15 данные дополнительных методов исследования (крови, мочи) позволяют говорить о высокой эффективности данного способа лечения сахарного диабета, что ведет к значительному снижению доз потребления пациентами экзогенного инсулина, а в ряде случаев и в отказе от инсулинотерапии. Способ не требует иммуносупрессивной
20 терапии, снижает риск вторичных осложнений сахарного диабета: ретино-, нейро-, нефропатий, позволяет значительно улучшить качество жизни больных. Терапевтический эффект длится, как правило, от 10 до 20 месяцев в зависимости от тяжести заболевания. Количество трансплантируемых клеток также определяется тяжестью течения сахарного диабета, в частности количеством потребляемого
25 больным экзогенного инсулина.

Преимущества изобретения

Предлагаемое изобретение позволяет, используя «полиакриламидный гель», путем введения его в организм млекопитающего сформировать in vivo капсулу, которая
30 в дальнейшем, будучи инъецированной жизнеспособными клетками для трансплантации, выполняет роль камеры для культивирования клеток-продуцентов в течение длительного времени необходимого для лечения соединением, продуцируемым клеткой, когда указанное соединение, высвобождаясь из этой искусственно

сформированной камеры, оказывает желаемое действие на организм пациента. Применение полиакриламидного геля для названных целей позволяет длительно поддерживать жизнеспособность культивируемых клеток и тем самым обеспечивает длительный лечебный эффект. Применение позволяет исключить иммуносупрессорную терапию и может найти очень широкое применение в практической медицине.

10

15

20

25

30

Формула изобретения

1. Применение полиакриламидного геля для формирования капсулы в ткани организма млекопитающего, причем указанная капсула предназначена для культивирования трансплантированных аутологичных или ксеногенных клеток животного в течение продолжительного времени, причем указанные трансплантированные клетки предназначены для продуцирования биологически активного компонента отсутствие или недостаток которого в организме вызывает заболевание и/или увеличение содержания которого в организме способствует улучшению состояния организма, страдающего патологией.
2. Применение по п. 1, где указанный организм является, в том числе, организмом человека
3. Применение по п. 2, где указанная патология является сахарным диабетом.
4. Применение по п. 1-3, где указанными трансплантированными клетками являются β -клетки поджелудочной железы.
5. Применение по п. 4, где указанные клетки поджелудочной железы являются клетками новорожденных кроликов или клетки поросят.
6. Способ культивирования и модификации гетерогенных клеток млекопитающих, с последующим использованием их для получения вакцинных препаратов, где культивирование гетерогенных клеток осуществляют длительное время в живом организме путем предварительного введения млекопитающему полиакриламидного геля, с последующей инъекцией в него гетерогенных или аутогенных клеток млекопитающих.
7. Способ по п.6, где что в качестве указанных гетерогенных клеток используют опухолевые клетки.
8. Способ по п.6, где в качестве указанных гетерогенных клеток используют клетки Лейдига.

9. Способ по любому из п.п. 6-9, где указанная модификация клеток заключается в снижении их пролиферативной активности и иммунизирующем действии на организм.

5 10. Способ лечения сахарного диабета методом трансплантации β -клеток поджелудочной железы, где реципиенту предварительно вводят полиакриламидный гель с последующей трансплантацией в него терапевтически значимого количества β -клеток поджелудочной железы.

10 11. Способ по п. 10, где указанными β -клетками являются клетки новорожденных кроликов или клетки поросят.

15

20

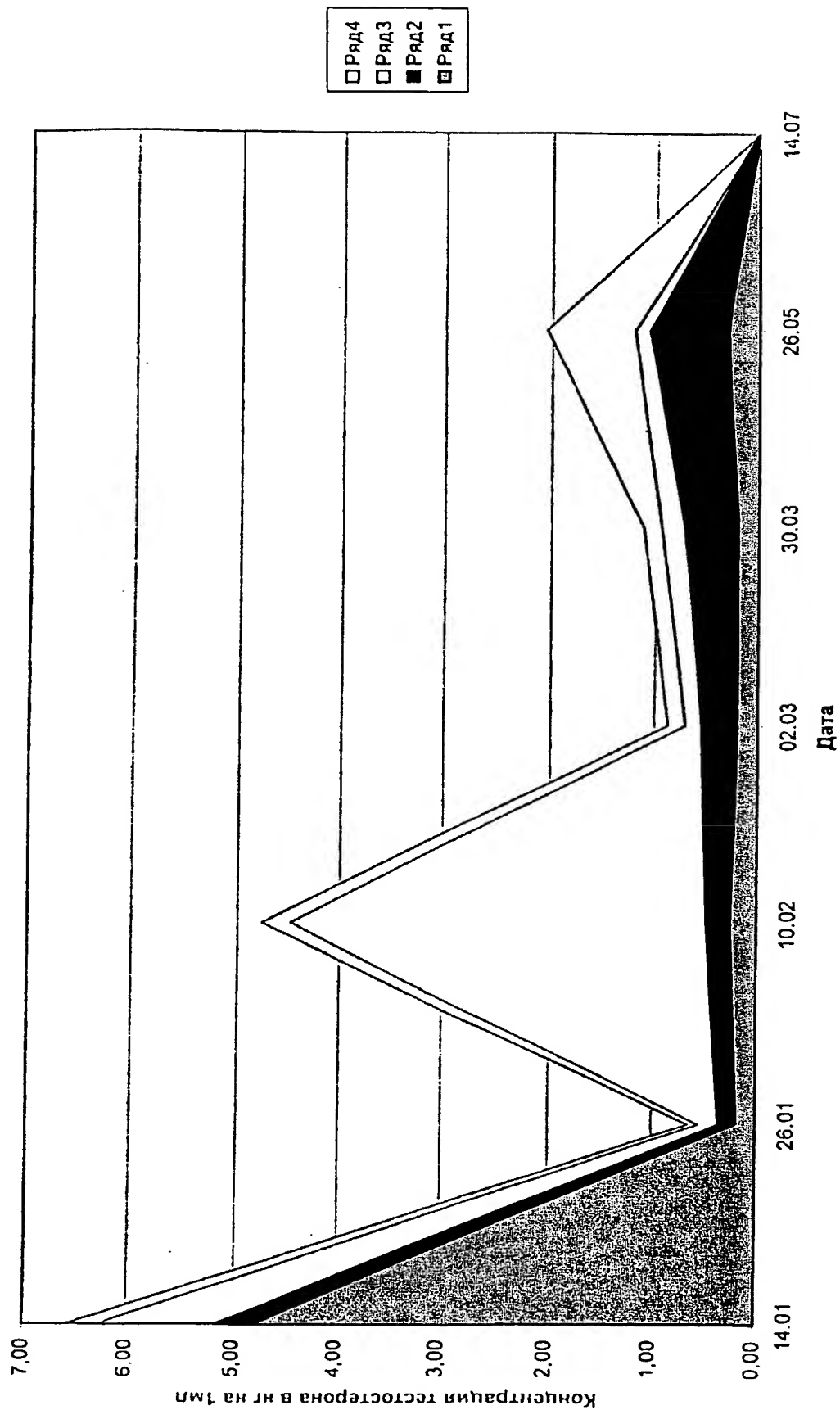
25

30

THIS PAGE BLANK (USPTO)

1/1

ФИГ. 1



THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/RU 00/00477

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7: A61K 47/32, 39/39, A61L 31/06, A61P 5/50, 35/00 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 : A61L 31/00, 3/06, A61K 31/78, 47/32, 39/39, A61P 5/50, 35/00 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0742022 A1 (MALOE VNEDRENCHESKOE PREDPRIYATIE "INTEGRALL"), 13 November 1996 (13.11.96) the abstract, page 2 of the description, lines 1-27 and table 1, page 4 of the description, lines 21-37, page 11 lines 21-32	1, 2
Y	the abstract, page 2 of the description, lines 1-27 and table 1, page 4 of the description, lines 21-37, page 11 lines 21-32	3-5, 10-11,
A		6-9
Y	SHUMAKOV V.I. et al. Transplantatsiya ostrovkovykh kletok v lechenii sakharnogo diabeta, sbornik nauchnykh trudov, Transplantatsiya fetalnykh tkanei i kletok, M., 1998, pages 109-114	3-5, 10-11
Y	VOLKOV I.E. et al. Predvaritelnye rezultaty ksenogennoi transplantatsii kultur ostrovkovykh kletok podzheludochnoi zhelezy detyam s insulinzavisimym sakharnym diabetom, Sbornik nauchnykh tudov, Transplantatsiya fetalnykh tkanei i kletok, M., 1998, pages 105-108	5, 11
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 7 February 2001 (07.02.01)		Date of mailing of the international search report 22 February 2001 (22.02.01)
Name and mailing address of the ISA/ RU		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/RU 00/00477

C. (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	RU 2090185 C1 (STAVROPOLSKAYA GOSUDARSTVENNAYA MEDITSINSKAYA AKADEMIYA) 20 September 1997 (20.09.97)	
X	example 1 of the description	1-2
A	example 1 of the description	3-5, 10-11

ОТЧЕТ О МЕЖДУНАРОДНОМ ПОИСКЕ

Международная заявка №
PCT/RU 00/00477

А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ: A61K 47/32, 39/39; A61L 31/06; A61P 5/50, 35/00

Согласно международной патентной классификации (МПК-7)

В. ОБЛАСТИ ПОИСКА:

Проверенный минимум документации (система классификации и индексы) МПК-7:

A61L 31/00, 3/06; A61K 31/78, 47/32, 39/39; A61P 5/50, 35/00

Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в поисковые подборки:

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, поисковые термины):

С. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ:

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
	EP 0742022 A1 (MALOE VNEDRENCHESKOE PREDPRIYATIE "INTERFALL") 13.11.1996	
X	реферат, стр. 2 описания, строки 1-27 и таблица 1, стр. 4 описания, строки 21-37 стр. 11 строки 21-32	1,2
Y	реферат, стр. 2 описания, строки 1-27 и таблица 1, стр. 4 описания, строки 21-37 стр. 11 строки 21-32	3-5,10-11
A		6-9
Y	ШУМАКОВ В.И. и др. Трансплантация островковых клеток в лечении сахарного диабета, сборник научных трудов, Трансплантация фетальных тканей и клеток, М., 1998, стр. 109-114	3-5,10-11
Y	ВОЛКОВ И.Э. и др. Предварительные результаты ксеногенной трансплантации культур островковых клеток поджелудочной железы детям с инсулинзависи- мым сахарным диабетом, Сборник научных трудов, Трансплантация фетальных тканей и клеток, М., 1998, стр. 105-108	5, 11

☒ Исследующие документы указаны в продолжении графы С.

☐ данные о патентах-аналогах указаны в приложении

* Особые категории ссылочных документов:

A документ, определяющий общий уровень техники

E более ранний документ, но опубликованный на дату
международной подачи или после нее

O документ, относящийся к устному раскрытию, экспони-
рованию и т.д.

P документ, опубликованный до даты международной по-
дачи, но после даты испрашиваемого приоритета
и т.д.

T более поздний документ, опубликованный после даты

приоритета и приведенный для понимания изобретения

X документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету
поиска, порочающий новизну и изобретательский уровень

Y документ, порочающий изобретательский уровень в соче-
тании с одним или несколькими документами той же
категории

& документ, являющийся патентом-аналогом

Дата действительного завершения международного
поиска: 07 февраля 2001 (07.02.2001)

Дата отправки настоящего отчета о международном поиске:
22 февраля 2001 (22.02.2001)

Наименование и адрес Международного поискового органа:
Федеральный институт промышленной
собственности

Россия, 121858, Москва, Бережковская наб., 30-1

Факс: 243-3337, телетайп: 114818 ПОДАЧА

Уполномоченное лицо:

С.Мельникова

Телефон № (095)240-25-91

Форма PCT/ISA/210 (второй лист)(июль 1998)

ОТЧЕТ О МЕЖДУНАРОДНОМ ПОИСКЕ

Международная заявка №
PCT/RU 00/00477

С. (Продолжение), ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ

Категория	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
X A	RU 2090185 C1 (СТАВРОПОЛЬСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ) 20.09.1997, пример 1 описания пример 1 описания	1-2 3-5,10-11